

R-GIROの活動報告 特定領域型R-GIRO 研究プログラム(2009年度採択研究プロジェクト)

Project Theme 極限二次利用学による循環型社会(琵琶湖モデル)の構築

産業への応用に期待が高まる100℃で生きる 超好熱菌

100℃近い環境で生育する超好熱菌を発見し
タンパク質安定化の新たな原理を解明しました。

私たちは自然界、とりわけ極限環境に棲息する微生物を利用し、産業プロセスに役立てる道筋を探っています。中でも焦点を当てているのが、超好熱菌と呼ばれる新種の微生物です。超好熱菌とは、一般に90℃以上でも生育する微生物を指します。1980年代前半、ドイツの研究者が海底の熱水鉱床から100℃以上もの高温下で生育する微生物を発見して以来、世界中の研究者がこぞって探索してきました。超好熱菌が注目を集める理由の一つは、この微生物が進化の源流に位置し、生物の進化をひも解く重要な手がかりになるためです。加えてもう一つ重要な理由は、新たな技術開発や産業プロセスへの応用が期待できるためです。

私たちはこれまでに数多くの超好熱菌を発見、分離に成功してきました。中でも今日まで大きな影響を与えることになったのが、1993年に鹿児島県の南方300kmにある小島島の海中100℃近い熱水の中で発見した新種の微生物です。その場所にちなんで、学名を「サーモコッカス・コダカラエンス(KOD1)」と名づけました。そもそもこの微生物に着目したのは、ひときわ増殖速度が速く、短時間で多量の菌体が得られるという産業化への応用に欠かせない特性を備えていたことからでした。

KOD1株の研究における大きな成果の一つは、ゲノムの解明に成功したことです。KOD1のゲノムは約200万塩基対であり、2300の遺伝子がコードされていることがわかりました。これは大腸菌染色体の半分以下とい

う極めて少ない原始的なカたちで、生物進化のなぞを解くカギとして、大きな意義を持ちます。さらにKOD1の遺伝子を網羅的に解析できるようになったことで、数多くの新規酵素や代謝経路を発見しました。

私たちはまたKOD1が生産するタンパク質の持つ高い耐熱性や好熱性にも注目しました。通常なら40℃に満たない温度で分解されるはずのタンパク質が、なぜ100℃もの高温で安定化するのかは、大きな疑問でした。私たちは、タンパク質内部の疎水的相互作用やイオン結合を増強するという独自のアイデアで、タンパク質の安定化する新たな原理を見出しました。その原理の応用として、実際にサーモライシン酵素(タンパク質分解酵素)内のアミノ酸残基の一つグリシンを、より疎水的なアラニンに置換した変異型タンパク質を合成したところ、通常のサーモライシンと比較して、変異型タンパク質の方がより顕著に安定性が増すことが明らかになりました。タンパク質は、酵素として、生命活動に重要な役割を果たしていますが、容易に変性し、機能を失いやすいという欠点があります。私たちが編み出した安定化手法は、現在世界で最もスタンダードな方法の一つとなっています。

耐熱性のあるKOD1由来の酵素を用いて
より高性能にDNAを増幅する技術を開発しました。

加えて世界的にも大きなインパクトを与えたのが、超好熱菌KOD1株のPCR法への応用を可能にしたことです。PCR(ポリメラーゼ・チェーン・リアクション)とは、DNAポリメラーゼという酵素を使ってDNAを増幅させ

る方法の一つです。95℃の高温でDNAを一本鎖に解離させ、55℃～60℃程度の低温でプライマーを結合させてから60℃～72℃の状態に置くと、DNA鎖の伸長反応が進みます。この行程を約三十回繰り返すことで微量のDNAの特定領域を100万倍以上に増やすことができます。この技術は遺伝子を用いた研究には必須で、DNA鑑定や食品の雑菌検査などにも用いられています。しかし従来のPCR法では、酵素が高温下で熱変性するため、その都度補充しなければならない上、反応速度や増幅における正確性などにも改善の余地が残されていました。

対して私たちが見いだしたKOD1株由来の酵素はDNA合成速度が速く、しかも長いDNAを合成する性質を持っていることが明らかになりました。その上高い耐熱性を有しているため、熱変性も起こりません。KOD1株由来の酵素であるDNAポリメラーゼを用いて実験したところ、PCRの反応時間が約4分の1に短縮されただけでなく、正確なDNAが増幅しました。また突然変異が入る確率は極めて低いことも確かめました。さらに実験の過程で、KOD1株由来のDNAポリメラーゼは混在する物質による反応阻害性に対する耐性が非常に強く、従来品と違って途中でDNAを抽出・精製するプロセスを必要としないという強みも新たに見出しました。

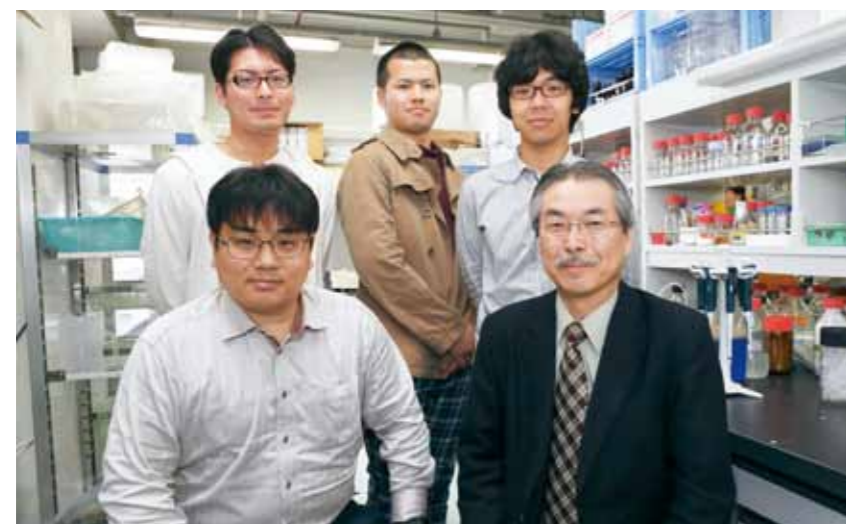
超好熱菌を使って廃棄物から水素を生産し
クリーンエネルギーとして利用する方策を見出しました。

さらに超好熱菌の二次利用法として、この超好熱菌を使って廃棄物から

水素を効率的に生産し、クリーンエネルギーとして利用する可能性を探っています。水素ガスは、燃焼してもCO₂やNO_xを排出しないクリーンなエネルギーであることに加えて燃焼効率が高く、燃料電池に利用すれば電気エネルギーにも変換できます。そのため再生可能エネルギー源を利用した水素生産法の開発に期待が集まっています。

私たちはデンプンの比較的簡単な代謝経路を用いてKOD1から水素を生産できることを発見しました。さらにこの能力を利用し、高性能な高速連続水素生産プロセスを開発しました。従来の廃棄物処理ではメタン発酵によって水素を発生させるのが一般的ですが、その方法では雑菌が混じり、安定して微生物を培養できないという課題があります。私たちは、高温培養で槽内に細かく切ったスポンジを入れることで微生物を高密度に保つ方法を編み出し、問題を解決しました。この方法を用いれば、メタン発酵による水素生産の700～1000倍もの高効率で、水素を連続生産することができます。実際に実験によって、培養液1リットルあたり1.1リットル/時の水素を生産し続けられることを実証しました。私たちの開発した水素生産法ならガス組成にCOなどの不純物を含まないため、燃料電池などへの応用も容易になります。

超好熱菌は他にも可能性を数多く秘めています。それらを見出し、産業プロセスへの応用を目指して研究を進めていくつもりです。



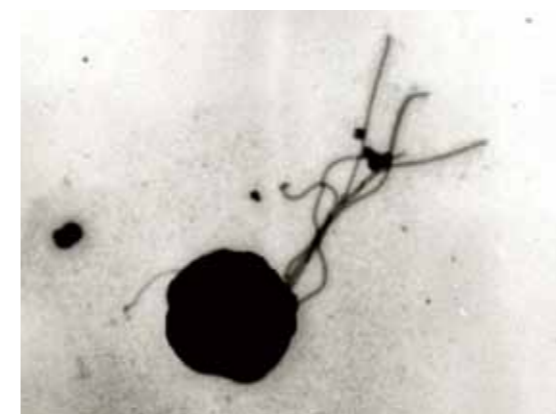
[写真 前列右]
立命館大学生命科学部 教授
今中 忠行 プロジェクトリーダー

[写真 前列左]
立命館大学生命科学部 助教
福田 青郎

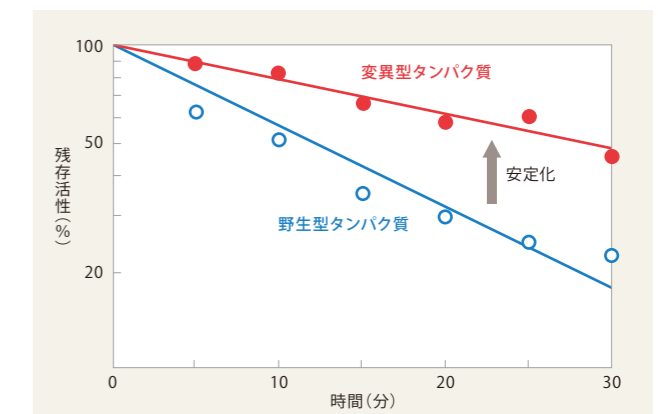
[写真 後列左]
立命館大学生命科学研究科 博士課程前期課程1回生
石井 尊

[写真 後列中央]
立命館大学理工学研究科 博士課程後期課程2回生
田頭 健太

[写真 後列右]
立命館大学生命科学研究科 博士課程前期課程1回生
内田 圭亮



KOD1 株



タンパク質安定化の実験: 「高温状態における酵素残存活性の減少」のグラフ

- 参考文献 / 1 Molecular bases of thermophily in hyperthermophiles. Proc. Jpn. Acad., Ser.B, 87, 587-602 (2011) 2 Characterization of DNA polymerase from Pyrococcus sp. strain KOD1 and its application to PCR. Appl. Environ. Microbiol., 63, 4504-4510 (1997) 3 Continuous hydrogen production by the hyperthermophilic archaeon, *Thermococcus kodakaraensis* KOD1. J. Biotechnol., 116 (3), 271-282 (2005)
- 連絡先 / 立命館大学びわこ・くさつキャンパス 今中研究室 電話: 077-561-5811 <http://www.ritsumeai.ac.jp/lifescience/skbiot/imanaka/HPtop.html>